

München, 1963 THESIS *Lana*

Über die Beeinflussung der renalen
Calcium- und Phosphatausscheidung
durch Vitamin D

Helmut */* Stockmaier

Aus dem Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h. c. K. Z i p f

ÜBER DIE BEEINFLUSSUNG DER RENALEN CALCIUM-
UND PHOSPHATAUSSCHIEDUNG DURCH VITAMIN D

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwigs-Maximilians-Universität zu München

von

Helmut Stockmaier

aus München

1963

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. Konrad U l l r i c h

Referent: Prof. Dr. Dr. h.c. Karl Z i p f

Tag der Promotion: 22. 2. 1963

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	
1	ALLGEMEINER TEIL (Literatur) 2
1.1	Geschichte und Chemie der D-Vitamine 2
1.2	Vorkommen der D-Vitamine bzw. ihrer Provitamine in der Natur 5
1.3	Angriffspunkte und Wirkungsmechanismus von Vitamin D 5
1.3.1	Beeinflussung der enteralen Calciumresorption 5
1.3.2	Wirkung am Skelett 8
1.3.3	Wirkung auf die Niere 9
2	EIGENE UNTERSUCHUNGEN 10
2.1	Tiermaterial 10
2.2	Versuchsvorbereitung 10
2.3	Versuchsdurchführung 11
2.4	Calciumbestimmung 11
2.4.1	Prinzip 12
2.4.2	Reagenzien 12
2.4.3	Lösungen 12
2.4.4	Ansätze 12
2.4.5	Messung 13
2.4.6	Auswertung 13
2.5	Phosphatbestimmung 13
2.5.1	Prinzip 13
2.5.2	Reagenzien 14
2.5.3	Lösungen 14
2.5.4	Ausführung 14
2.5.5	Auswertung 14
2.6	Ergebnisse 15
3	DISKUSSION 28
4	ZUSAMMENFASSUNG 30
5	LITERATURVERZEICHNIS 31
	LEBENS LAUF



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154022_0070

E I N L E I T U N G

Hohe Dosen von Vitamin D erzeugen einen starken Anstieg des Calcium- und Phosphatgehaltes im Blut. Gleichzeitig wird die Ausscheidung dieser Mineralien durch die Nieren verändert.

Die Erhöhung des Calciumspiegels hat eine Depression der Ausschüttung von Parathormon zur Folge. Dadurch wird die Calcium- und Phosphatausscheidung mit dem Harn ebenfalls beeinflusst.

Es erhebt sich die Frage, welche Veränderungen sich aus dieser Interferenz von Vitamin D und Parathormon an der Niere hinsichtlich der renalen Ausscheidung von Calcium und Phosphat ergeben.

Aus diesem Grund erhielt ich am Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie der Tierärztlichen Fakultät der Universität München die Aufgabe, die Wirkung von Vitamin D auf die Ausscheidung von Calcium und Phosphat mit dem Harn zu untersuchen.

1. ALLGEMEINER TEIL

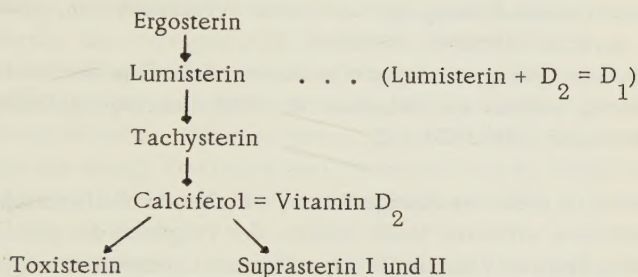
L i t e r a t u r

1.1 Geschichte und Chemie der D-Vitamine

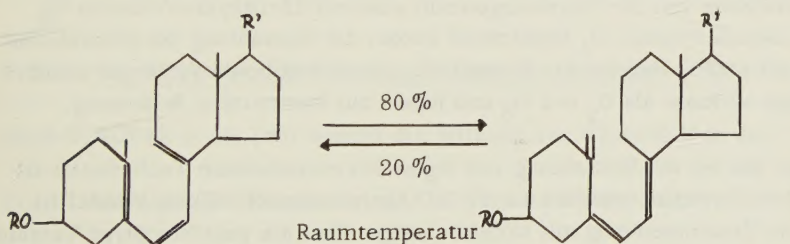
Im Jahre 1906 wurde von G. HOPKINS erstmals die Vermutung ausgesprochen, daß die Ursache der Rachitis auf dem Mangel der Nahrung an einem lebenswichtigen Stoff beruhe. Schon seit über 100 Jahren benutzte man Lebertran als Heilmittel für Rachitis. MELLÄNBY erkannte 1919 (40), daß die Krankheit durch gewisse tierische Fette (Dorschleberöl und Butter) günstig beeinflusst werden kann, und daß der wirksame Stoff offenbar fettlöslich ist. Seine Erfolge mit Butter ließen ihn zuerst glauben, daß der Faktor, welcher die Rachitis kuriert, mit dem bereits entdeckten, fettlöslichen Vitamin A identisch sei. Doch gelang es bald McCOLLUM und seinen Mitarbeitern (38) und SHERMANN und PAPPENHEIMER (54), künstliche Rachitis an Ratten zu erzeugen und den gefundenen Faktor deutlich von Vitamin A zu unterscheiden, da er sich als relativ hitzeresistent erwies. Diese Wissenschaftler bewiesen auch, daß durch einen jeweiligen starken Überschuß von Calcium oder Phosphor die Resorption der Calcium- bzw. Phosphationen im Darm unmöglich gemacht wird, und zwar durch Ausfällung von unlöslichem Calciumphosphat. Bei der Auffindung der antirachitischen Vitamine war die Erkenntnis von großer Bedeutung, daß die Rachitis mit mangelnder Sonnenbestrahlung zusammenhängt, und vor allem, daß Sonnenlicht und ebenso Bestrahlung mit der Quarzlampe heilend wirken. HULDSCHINSKY (30) folgerte daraus, daß der ultraviolette Anteil der Strahlen wirksam sei. Untersuchungen von HESS und WEINSTOCK (29) sowie STEENBOCK und BLACK (55) zeigten 1954, daß nicht nur die Bestrahlung des Körpers günstig wirkt, sondern daß auch das Futter bei Bestrahlung mit ultravioletttem Licht antirachitische Eigenschaften annimmt. Wie die genauere Untersuchung bald ergab, sind es die Sterine der Nahrung, die durch das Licht aktiviert werden. 1926 gelang es schließlich, das Ergosterin, welches in kleinen Mengen das Cholesterin der Nahrung begleitet, als Muttersubstanz des wirksamen Stoffes zu identifizieren (WINDAUS und HESS : 66, ROSENHEIM und WEBSTER : 49, POHL : 46).

Durch Ultraviolettbestrahlung erhielt WINDAUS zuerst das sog. Vitamin D₁ in kristallisierter Form. Dieses erwies sich als eine Molekülverbindung zwischen dem inaktiven Lumisterin und dem eigentlichen antirachitischen Wirkstoff, dem Vitamin D₂ oder Calciferol (LEUTHARDT : 36).

Früher wurde die im folgenden Schema angegebene Reihenfolge der Zwischenprodukte angenommen (LEUTHARDT : 36):



Seit 1948 weiß man jedoch, daß Vitamin D nicht über Lumisterin und Tachysterin, sondern als unmittelbares Photoprodukt über Präcalciferol entsteht. VELLUZ und Mitarbeiter (61) fanden, daß Vitamin D₂ kein eigentliches Photoprodukt ist, sondern selbst bei Abwesenheit von Licht in einer sog. Nachreaktion aus dem von ihnen entdeckten Präcalciferol entsteht. Dieser Übergang erfolgt in Lösung unter Einstellung eines rein thermischen Gleichgewichts, welches bei Raumtemperatur zu 80 % auf der Seite des Vitamins liegt.



Präcalciferol

Calciferol

R : H; CH₃CO

R' : C₉H₁₇

Das Lumisterin ist ein Stereoisomeres des Ergosterins, das Tachysterin ein Isomeres des Lumisterins. Neuere Arbeiten von VELLUZ (62) deuten darauf hin, daß Lumisterin und Tachysterin nicht als Zwischenprodukte bei der photochemischen Bildung des Calciferols aufzufassen sind, sondern *sekundär* aus dem Calciferol entstehen.

Bei Überbestrahlung von Ergosterin entstehen die Suprasterine I und II und das Toxisterin, welches wie Calciferol den Blutcalciumspiegel steigern soll (AMMON und DIRSCHERL : 3).

Ergosterin ist nicht das einzige Sterin, welches durch Ultraviolettbestrahlung antirachitisch wirksame Stoffe liefert. Der Vergleich der physiologischen Eigenschaften von Vitamin D-Präparaten aus Lebertran mit dem kristalisierten Vitamin D₂ ergab an Küken beträchtliche Unterschiede in der Wirksamkeit, woraus man schloß, daß der im Tran vorliegende Wirkstoff nicht mit Vitamin D₂ identisch ist. BROCKMANN (65) gelang es 1938 durch selektive Adsorption aus Fischleberölen, ein dem Bestrahlungsprodukt von 7-Dehydrocholesterin (WINDAUS) identisches, "natürliches" Vitamin D₃ zu isolieren. Vitamin D₃, auch Cholecalciferol genannt, unterscheidet sich von Vitamin D₂ nur durch den Bau der Seitenkette. Bei Mensch und Ratte ist seine Wirkung gleich oder nur um wenig stärker als die von Vitamin D₂ (WILSON: 65, KALOUD: 34), bei Küken ist Vitamin D₃ ca. 25 mal wirksamer als Vitamin D₂ (HUME: 31).

Durch Bestrahlung von 22-Dihydroergosterin wird ein 22-Dihydro-Vitamin D₂ erhalten, das als Vitamin D₄ bezeichnet wurde; die Bestrahlung des pflanzlichen 7-Dehydrositosterins lieferte das Vitamin D₅, doch sind beide Vitamine wesentlich weniger wirksam als D₂ und D₃ und haben nur theoretische Bedeutung.

Ein Derivat des bei der Bestrahlung von Ergosterin entstehenden Tachysterins ist das Dihydrotachysterin, welches als AT 10 (Antitetaniestoff 10) im Handel ist. Es wurde im Zusammenhang mit Untersuchungen über die parathreoprive Tetanie gefunden.

Die D-Vitamine sind einander in ihren chemischen und physikalischen Eigenschaften sehr ähnlich. Sie sind fettlöslich und sowohl gegen Säuren als auch gegen Alkalien sehr widerstandsfähig. Die Untersuchung ihres Wirkungsmechanismus wurde von ZETTERSTRÖM (68) durch Darstellung einer wasserlöslichen Verbindung mit Phosphat erleichtert.

1.2 Vorkommen der D-Vitamine bzw. ihrer Provitamine in der Natur

Cholesterin und Ergosterin können als Provitamin D aufgefaßt werden. Cholesterin ist als körpereigene Substanz des tierischen Organismus bekannt (Zoosterin), während das Ergosterin, das wichtigste pilzliche Sterin (Mykosterin), auch in den pflanzlichen Phytosterinen und bei Tieren (Rote Wegschnecke, Regenwurm) und im Eigelb durch WINDAUS (66) und BOCK (4) nachgewiesen worden ist. - Besonders provitamin-D-reiche höhere Pflanzen gibt es nicht; Gemüse, Früchte und Cerealien enthalten nur wenig. Die Hefen sind besonders reich an Provitamin D, so daß man sie allgemein als Vitamin-D-Quelle bezeichnen kann.

Das weitaus wichtigste D-Vitamin ist das Vitamin D₃, dessen Hauptquellen die Leberöle von Thunfisch, Heilbutt und Dorsch sind. Die Provitamine D werden bei Tieren fast durchweg in der Haut abgelagert. Reichliche Provitaminmengen (7-Dehydrocholesterin) enthält besonders die Schweineschwarte. Im Blutserum werden nach WARKANY und MABON (62) durchschnittlich 3 % gefunden.

Die Biosynthese des tierischen Provitamins erfolgt wahrscheinlich direkt aus Essigsäure, welche zu Cholesterin aufgebaut wird. Dieses wird dann mit der Cholesterindehydrogenase in der Dünndarmwand dehydriert (FLASCHENTRÄGER - LEHNARTZ: 18). Das Provitamin wird in der Haut durch UV-Licht in Vitamin D₃ übergeführt.

1.3 Angriffspunkte und Wirkungsmechanismus von Vitamin D

Nach STRÖDER et al. (56) besteht die Wirkung von Vitamin D in der:

- 1) Förderung der Resorption von Calcium im Intestinum,
- 2) Förderung der Ablagerung von Calcium und Phosphor in der organischen Matrix des Knochens und
- 3) Regulierung der Ausscheidung von Calcium und Phosphor durch die Niere.

1.3.1 Beeinflussung der enteralen Calciumresorption

Alle bisherigen Erfahrungen zeigen, daß Vitamin D in erster Linie die enterale Resorption von Calcium fördert. Diese Wirkung ist in den einzelnen Darmab-

schnitten unterschiedlich ausgeprägt.

Im proximalen Teil des Dünndarmes von Ratten konnten HARRISON und HARRISON (20) bei Verabreichung von Vitamin D keine Resorptionsverbesserung von ^{45}Ca erzielen, während die Resorption aus dem distalen Dünndarm und dem Dickdarm deutlich erhöht war. In *vitro* zeigten dieselben Autoren (21) jedoch, daß sich die Calciumpassage im proximalen Teil des Intestinums durch Vitamin D steigern läßt, und daß Cortison bei diesem Vorgang als Antagonist wirkt. Die Wirkung beider Stoffe auf den Calciumtransport soll auf einer Permeabilitätsbeeinflussung der Zellmembran beruhen.

MIGICOVSKY und JAMIESON (41) haben die Resorptionsförderung mit der Bildung eines Calcium-Vitamin-D-Komplexes, welcher nicht nur die Resorption, sondern auch den Einbau in den Knochen begünstigt, zu erklären versucht. Außerdem soll nach MIGIKOVSKY und JAMIESON die Resorptionsförderung von der oralen Verabreichung abhängig sein.

CAUSERET und HUGOT (9) machen die Wirkung von Vitamin D vom Calcium-Gehalt der Nahrung abhängig, wobei der Wirkungsgrad bei einem Gehalt von 0,20 - 0,35 % Calcium am größten ist. Bei größeren Calcium-Anteilen ist ein zusätzlicher Effekt von Vitamin D nicht mehr zu erkennen.

Wie vor einem Jahr durch TSUNO (59) nachgewiesen wurde, läßt sich durch Zugabe von Vitamin D die Calciumresorption im Darm nicht unmittelbar, sondern vermutlich erst nach Ablauf gewisser Stoffwechselvorgänge beeinflussen. Weiter beobachtete TSUNO (59) eine Erniedrigung des pH-Wertes im Darm durch Vitamin D. Möglicherweise steht diese Erniedrigung im Zusammenhang mit der von DE LUCA und STEENBOCK (14) 1957 gefundenen und experimentell gesicherten Hemmung des Citratabbaues durch Vitamin D. An Vitamin-D-arm ernährten Ratten stellten die beiden Wissenschaftler fest, daß die Oxydation von Citrat und Isocitrat durch Nierenmitochondrien mit Vitamin D gehemmt wird. Dies bedeutet, daß der Citronensäureabbau im KREBS-Zyklus blockiert wird.

1961 konnte BRUCHMANN (6) durch Versuche *in vitro* zeigen, daß die Citronensäureanhäufung auf einer Hemmung der Aconitathydratase beruht, welche die Citronensäure im Tricarbonsäurezyklus in cis-Aconitsäure überführt. Die Aconitathydratase gewann BRUCHMANN aus Fraktionen von Herzmuskel, Hefe und *Aspergillus niger*. Bei diesen Untersuchungen stellte BRUCHMANN fest, daß die Fermenthemmung durch Vitamin D₂, Dihydratichysterin und Präcalciferol, nicht

dagegen durch Lumisterin und Tachysterin erfolgt. Dabei geht die Stärke der Hemmung bemerkenswerterweise der hypercalcämischen Wirkung dieser Stoffe parallel, d.h. sie fällt in der Reihenfolge Dihydrotachysterin, Vitamin D₂, Präcalciferol ab.

Die Folge der Blockierung des Citratabbaues durch Hemmung der Aconitat-Hydratase ist eine intermediäre Anhäufung von Citronensäure. Entsprechend stellten CARLSSON, HOLLUNGER und LINDQUIST (7) 1954 bei Verfütterung von Vitamin D an Hunde fest, daß das Serumcitrat nach 24 Stunden auf 180% des Ausgangswertes angestiegen war. Parallel zum Citratanstieg trat auch eine Erhöhung des Calcium- und Phosphatsgehaltes des Serums ein. Ähnliche Citraterhöhungen nach Vitamin D fanden HARRISON und HARRISON (22) sowie ELLIOTT und FREEMAN (17) im Serum, JOSHI et al. (33) und DIKSHIT et al. (15) im Knorpel. Citratanstiege in Muskulatur, Niere und Knochen sahen CRAWFORD und Mitarbeiter (11). In Übereinstimmung mit diesen Befunden führte die Verabreichung von Vitamin D-freiem Futter an Ratten durch HARRISON und HARRISON (23) zu einem Abfall der Citratwerte in Serum und Knochen.

Eine Folge der intermediären Anreicherung von Citronensäure ist die Mobilisierung von Knochencalcium durch Bildung löslicher Citronensäurekomplexe (27, 43). Außerdem sollen diese Komplexe nach SCHREIER und HURNI (32) eine Verbesserung der enteralen Calciumresorption zur Folge haben. Übereinstimmend damit fördern orale Citronensäuregaben die Heilung der Calciummangelrachitis bei Ratten (THEOPOLD und HENNIG: 57, THOMAS et al.: 58, 1957) und Menschen (HARRISON und HARRISON: 24, ROMINGER: 48). HARRISON und HARRISON (25) sind jedoch der Meinung, daß die antirachitische Wirkung von Vitamin D in keinem kausalen Zusammenhang mit der Beeinflussung des Citronensäurestoffwechsels steht. Sie stützen diese Auffassung durch folgenden Befund: Cortison vermag den Anstieg des Serum- und Knochencitratpiegels nach Verabreichung von Vitamin D zu unterbinden, wobei jedoch die antirachitische Wirkung - gemessen am Anstieg des Serumphosphats und der Calcifikation - nicht gehemmt wird.

Bei der Verabreichung von Parathormon treten bezüglich der Citronensäurekonzentration im Serum ähnliche Befunde auf (ELLIOTT und FREEMAN: 17, NEUMAN et al.: 43 und L'HEUREUX und ROTH: 37). Es handelt sich bei Vitamin D jedoch offenbar um einen davon unabhängigen Vorgang, da das Vitamin die Citronensäure auch bei parathyreoidektomierten Tieren stimuliert.

Neben einer Steigerung der Calciumresorption und einer Erhöhung des Citronensäuregehaltes im Blutplasma verbessert Vitamin D nach CARLSSON (8) auch die enterale Phosphatresorption. Dieser Ansicht widerspricht LASKOWSKI (35). Nach der heutigen Auffassung verbessert Vitamin D die Phosphatresorption nur indirekt, etwa durch Verhinderung einer enteralen Phosphatfällung.

1.3.2 Wirkung am Skelett

Am Skelett bewirkt Vitamin D eine Verbesserung der Mineralisierung und die Verhütung oder Ausheilung von Rachitis. Die Frage, ob dieser Effekt durch Resorptionsverbesserung der Knochenmineralien oder durch direkte Einwirkung auf den Knochen zustande kommt, war der Anlaß zu Meinungsverschiedenheiten:

Nach GREENBERG (19) können Ratten bei Vitamin D-Mangelrachitis parenteral zugeführtes ^{45}Ca ebensowenig zur Knochenmineralisierung verwenden wie oral gegebenes. Dies bedeutet, daß die Ursache der Rachitis nicht in einer verschlechterten Calciumresorption besteht. Vitamin-D-Mangel würde sich demnach unmittelbar am Skelett auswirken.

Diesen Befunden stehen Ergebnisse von MIGICOVSKY und EMSLIE (42) an Küken gegenüber. Danach retinieren rachitische Knochen intramuskulär zugeführtes ^{45}Ca in gleichem Umfang wie normale Knochen. Die Zufuhr von Vitamin D verbessert jedoch die Ablagerung von oral zugeführtem Calcium im Skelett um mehr als das Doppelte, während dieser Effekt bei intramuskulär verabreichtem Calcium ausbleibt. Die Untersucher ziehen aus diesen Befunden den Schluß, daß die Wirkung von Vitamin D in einer Resorptionsverbesserung bestehe.

Die heutige Auffassung geht dahin, daß Vitamin D neben einer direkten Verbesserung der Calciumresorption und einer indirekten Begünstigung der enteralen Phosphataufnahme die Verknöcherungsvorgänge direkt beeinflusst. Dies stimmt nicht nur mit den meisten z.T. widersprüchlichen Beobachtungen in vivo überein, sondern deckt sich auch mit Untersuchungen in vitro. DISHIT und PATWARDHAN (16) stellten z.B. fest, daß Knochen rachitischer Ratten in Calcium-Phosphatlösungen nur von solchen Tieren verknöcherten, die mit Vitamin D vorbehandelt waren.

Die Wirkung von Vitamin D auf das Skelett scheint an eine geeignete Dosierung gebunden zu sein. Überdosierung führt, wie erwähnt, zu einer Mobili-

sierung der Knochenmineralien mit Erhöhung des Calcium- und Phosphatgehaltes im Blut und bei längerer Verabreichung zu einer Mineralverarmung des Skeletts, hat also den gegenteiligen Effekt einer therapeutischen Verabreichung. Dies veranlaßte LEUTHARDT (36) von einer paradoxen Wirkung des Vitamins zu sprechen.

1.3.3 Wirkung auf die Niere

Nach älteren Ansichten (HARRISON und HARRISON: 26), besteht die Wirkung des D-Vitamins an der Niere in einer Verbesserung der tubulären Phosphatrückresorption. Dem widerspricht LEUTHARDT (36) mit der Begründung, daß dann bei Vitamin-D-Mangel eine Phosphatdiurese eintreten müßte. Er befindet sich damit in Übereinstimmung mit HERZFELD et al. (28), welche an Hunden unter dem Einfluß von Vitamin D keine Unterschiede in der Rückresorption von Phosphat fanden.

Die Wirkung des D-Vitamins auf die Mineralausscheidung durch die Niere ist eng mit der des Parathormons verknüpft. Bei einer Calciummangelrachitis wird ein Absinken des anorganischen Phosphats durch Phosphatdiurese und eine im Stoffwechselversuch erwiesene negative Phosphorbilanz beobachtet. Sie wird ausgelöst durch die primär verschlechterte Calciumresorption: Die vom humoralen Calciumspiegel gesteuerte Nebenschilddrüse wird durch den erniedrigten Serumcalciumgehalt zu vermehrter Tätigkeit angeregt und bewirkt ihrerseits eine Steigerung der Phosphatausscheidung durch die Nieren. Auf diese Weise kommt es zu der bei Rachitis häufig beobachteten Hypophosphatämie. Durch Parathormongaben an einen Patienten mit Nebenschilddrüseninsuffizienz erkannten ALBRIGHT und ELLSWORTH (1) schon 1929 diesen Effekt. Nach SAMIY et al. (50) beruht die Phosphatausschwemmung auf einer Abnahme der tubulären Rückresorption, wogegen Parathormon nach NICHOLSON (44) auf die Rückresorption in den proximalen Tubuli keinen Einfluß hat, sondern die aktive Sekretion von Phosphat in den distalen Tubuli fördert. Die reine Vitamin-D-Wirkung besteht nach CLEMENS (10), CRAWFORD (12) und WARKANY und Mitarb. (63) - ebenso wie die Parathormonwirkung - in einer vermehrten Phosphatausscheidung durch die Niere. CRAWFORD zeigte dies an parathyreoidektomierten Ratten, CLEMENS verpflanzte die Nieren eines mit Vigantol vorbehandelten Hundes auf den Hals eines unvorbehandelten Hundes und erhielt hier beträchtlich höhere Phosphatmengen als mit Nieren von Kontrolltieren. Diese Befunde decken sich mit Erhebungen von ALBRIGHT und REIFENSTEIN (2), welche feststellten,

daß Vitamin D bei hypoparathyreotischen Menschen eine Verstärkung der Phosphatausscheidung mit dem Harn und eine Senkung des Phosphatspiegels im Blut hervorruft.

Für die Applikation von Vitamin D ist nach ZWEYMÜLLER (69) von Bedeutung, daß nach protrahierter Verabreichung die Glomerulumfiltration und die tubuläre Phosphatrückresorption stärker und anhaltender sinken als bei Einzelverabreichungen.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß die u n b e e i n f l u ß t e Wirkung von Vitamin D und die Wirkung von Parathormon auf die Niere gleich sind. Beide führen zu erhöhter Phosphat- und Calciumausscheidung. Beim g e s u n d e n Individuum wird die Ausschüttung von Parathormon durch das Vitamin gebremst. Die Phosphatausscheidung wird gedrosselt, und die Resorption von Calcium aus dem Darm verbessert. Die Folge ist ein reichlicheres Angebot dieser Mineralien in den Verknöcherungszonen.

2. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

2.1 Tiermaterial

Für die Durchführung der Versuche wurden weibliche, juvenile Albinoratten verwendet. Die ca. 180 - 220 g schweren Tiere waren mit "Altromin" (Altrogge-Kraftfutter-GmbH, Lage/Lippe) ernährt worden.

2.2 Versuchsvorbereitung

Um alimentäre Schwankungen des Mineralstoffspiegels im Blute auf ein Mindestmaß herabzusetzen, wurde den Tieren etwa 14 Stunden vor Versuchsbeginn das Futter entzogen.

Die Narkose bestand in der kurzzeitigen Betäubung mit Diäthyläther pro narcosi in einem abgedeckten Glasgefäß und einer subkutanen Verabreichung von 0,5 ml Äthylurethan/100 g Körpergewicht in 25%iger wässriger Lösung. Die Urethanwirkung trat nach ca. 30 Minuten ein. Etwa 5 Stunden nach der ersten Verabreichung wurden 0,05 ml Äthylurethan pro 100 g Körpergewicht nachgespritzt. Auf diese Weise ließ sich eine etwa 12 Stunden anhaltende Dauernarkose erzielen.

Die betäubten Ratten wurden an der rechten Schenkelinnenseite und am Unterbauch in der regio hypogastrica vollständig enthaart. Nun wurde die Vena femoralis freigelegt, distal des Kniegelenkes angestochen und eine mittels PVC-Schlauch verlängerte, abtestumpfte Kanüle Nr. 12 eingebunden. Der PVC-Schlauch war an einen Infusionsapparat angeschlossen. Zur quantitativen Gewinnung des Harns wurde die Blase durch Laparatomie an der linea alba freigelegt und mittels eines durch das lig. vesico-umbilicale gezogenen Catgutfadens markiert. Nach Ausdrücken eventuell vorhandenen Harns wurde die Blase in die Bauchhöhle zurückverlagert.

2.3 Versuchsdurchführung

Die Testtiere erhielten zunächst eine 2 Stunden währende Dauerinfusion von 0,6 ml physiologischer Kochsalzlösung pro Stunde mit Hilfe des Infusionsgerätes UNITA I der Fa. B. BRAUN - Melsungen.

Anschließend wurde den Tieren 7 Stunden lang eine wässrige Lösung von 6000 i.E. Vitamin D₃ pro Stunde unter denselben Bedingungen verabreicht. Sie wurde hergestellt durch entsprechende Verdünnung von Vi-Dé-3 Hydrosol® WANDER mit physiologischer Kochsalzlösung.

Bei den Kontrollversuchen wurden 9 Stunden lang 0,6 ml physiologische Kochsalzlösung pro Stunde in gleicher Weise appliziert. Um die Ratten vor Wärmeverlusten zu schützen, wurden sie während des Versuchs mit Glühlampen angestrahlt. Die Lösionsstellen wurden zum Schutz vor Austrocknung mit Zellstoff abgedeckt, welcher mit physiologischer NaCl-Lösung getränkt war.

Nach jeder vollen Stunde wurde die Blase aus der Bauchhöhle hervorgeholt und digital sorgfältig ausgepreßt. Der gewonnene Harn wurde in vorher abgewogenen Wiegeschälchen aufgefangen, anschließend auf der Analysenwaage abgewogen, und die mit Aq. dest. hergestellte Verdünnung in einem Meßzylinder abgelesen.

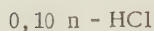
2.4 Calcium-Bestimmung

Die flammenphotometrische Calciumbestimmung im Harn wird durch organische Bestandteile, Phosphat und vorhandene Kationen gestört. Dies entfällt bei der von SCHMID und ZIPF (51) beschriebenen Substitutionsmethode.

2.4.1 Prinzip

Ein Zumischansatz, welcher Calcium in unbekannter Konzentration enthält, wird mit einer bekannten Menge Calcium versetzt. Dem Ansatz zur Calciumanalyse wird eine chemisch äquivalente Menge Strontium beigelegt, so daß der Quotient Erdalkalien/Phosphat in beiden Ansätzen gleich ist.

2.4.2 Reagenzien (p.a. Qualität)



2.4.3 Lösungen

1. Calcium-Zumischlösung: Aus Calc. carbonic. und der äquivalenten Menge Acid. hydrochlor. wird eine Calciumlösung hergestellt, welche in der Konzentration etwa $\frac{1}{8}$ der erwarteten Calciummenge in 100 ml Harn entspricht.
2. Strontiumlösung: Aus Stront. carbon. und Acid. hydrochlor. wird eine der Calciumlösung chemisch äquivalente Strontiumlösung bereitet.

2.4.4 Ansätze

Calcium-Analyse: 1 ml Harnverdünnung (s. 2.3. Vers. Durchf.)
2 ml Sr-Lösung
2 ml H₂O

Zumischansatz:

1 ml Harnverdünnung
2 ml Ca-Lösung
2 ml H ₂ O

2.4.5 Messung

Die Bestimmung des Calcium-Gehaltes erfolgte mit dem Spektralphotometer PMQ II der Fa. Carl ZEISS mit Flammenzusatz bei einer Wellenlänge von 422,7 m μ und einer Spaltbreite von 0,04 mm. Der Untergrund wurde durch Mittelwertbildung der Meßwerte bei 418 und 426 m μ ermittelt.

2.4.6 Auswertung

Die gesuchte Calciumkonzentration des Harnes errechnet sich aus

$$\begin{aligned} \text{Ca}_{\text{Harn}} &= \frac{0,5 \times \text{Konz. d. Zumischlg.} \times \text{Auffüllvol.}}{\text{Harnvol.} \times (\text{Nettomessw. d. Zumischans.} \\ &\quad \cdot \frac{\text{x Nettomesswert d. Anal.} - \text{F}}{\text{Nettomesswert der Analyse}} \quad \text{mg\%} \end{aligned}$$

Da bei den Analysen kein spektralreines Strontiumcarbonat zur Verfügung stand, wurde das eingeschleppte Calcium rechnerisch durch den Faktor F in Abzug gebracht.

Die stündlich ausgeschiedene absolute Calciummenge wurde wie folgt errechnet:

$$\text{Ca} = \frac{\text{Ca}_{\text{Harn}} \times \text{Harnvolumen}}{100} \quad (\text{mg})$$

2.5 Phosphat-Bestimmung

Die Phosphatbestimmung erfolgte nach der colorimetrischen Methode von POLLEY (47).

2.5.1 Prinzip

Die Phosphorsäure wird in Phosphormolybdänsäure übergeführt und diese durch Zinn-(II)-chlorid zu Molybdänblau reduziert. Die Farbintensität wird photometrisch bestimmt.

2.5.2 Reagenzien (p.a. Qualität)

Ammon. molybd. crist.

Acid. trichloracetic.

Stannum chlorat.

Acid. hydrochlor. conc.

2.5.3 Lösungen

1. Molybdänsäurereagens

a) 2,5 g Ammoniummolybdat werden in 97,5 ml Wasser gelöst.

b) 150 g Trichloressigsäure werden in 850 ml Wasser gelöst.

Beide Lösungen werden gemischt und in einer dunklen Flaschen aufbewahrt.

2. 6 g Zinn-(II)-chlorid werden in 10 ml konzentrierter Salzsäure gelöst. Diese Stammlösung wird in dunkler Flasche bei einer Temperatur von ca. 1°C aufbewahrt. Zum Gebrauch werden 0,2 ml mit Wasser ad 100 ml verdünnt.

3. 0,1 %. Trichloressigsäurelösung

2.5.4 Ausführung

Die Harnverdünnung (siehe 2.3: Versuchsdurchführung) wird 1:25 mit 0,1 % Trichloressigsäure verdünnt. Man versetzt 1 ml dieses Harns mit 10 ml Molybdänsäurereagens und fügt 5 min später 0,5 ml des verdünnten Zinn-(II)-chloridreagens zu. Nach 15 min langem Stehen wird die Extinktion der entstandenen Blaufärbung mit dem Spektralphotometer PMQ II der Fa. Carl ZEISS bei einer Wellenlänge von 660 m μ und einer Spaltbreite von 0,04 mm gemessen.

2.5.5 Auswertung

Die Extinktionswerte werden anhand einer unter gleichen Bedingungen mit analysenreiner Phosphorsäure aufgestellten Eichkurve ausgewertet. Daraus ergibt sich das Phosphat als Phosphorsäurekonzentration des unverdünnten Harns nach folgender Formel:

$$\text{H}_3\text{PO}_4 \text{ Harn} = \frac{\text{Auffüllvolumen} \times \text{H}_3\text{PO}_4 \text{-Konz.d.Harnverdünnung}}{\text{Harnvolumen}} \quad (\text{mg}\%)$$

Daraus errechnet sich die stündlich ausgeschiedene absolute PO_4 -Menge wie folgt:

$$\text{H}_3\text{PO}_4 = \frac{\text{H}_3\text{PO}_4 \text{ Harn} \times \text{Harnvolumen}}{100} \quad (\text{mg})$$

2.6 Ergebnisse

In den folgenden Tabellen 1-5 und den Abbildungen 1-5 sind die gewonnenen Ergebnisse dargestellt. Es sind die arithmetischen Mittelwerte der:

- stündlichen Harnmengen
- Phosphorkonzentration des Stundenharnes
- stündlich ausgeschiedenen absoluten Phosphormengen
- Calciumkonzentration des Stundenharnes
- stündlich ausgeschiedenen absoluten Calciummengen

und deren Streuung m dargestellt.

Die Streuung m der Mittelwerte wurde nach folgender Formel berechnet:

$$m = \pm \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - M)^2}{n(n-1)}} \quad (64)$$

wobei x_i den einzelnen Meßwert,

M das arithmetische Mittel zeitlich zusammengehöriger Meßwerte und

n die Anzahl der Einzelbestimmungen

darstellen.

Die entsprechenden Stundenmittelwerte der Test- und Kontrolltiere wurden auf Signifikanz untersucht nach der Formel

$$M_1 - M_2 > \pm T \sqrt{m_1^2 + m_2^2}$$

wobei M_1 den Stundenmittelwert der Testgruppe,

M_2 den Stundenmittelwert der Kontrollgruppe,

m_1 die Streuung der Stundenmittelwerte der Testgruppe,

m_2 die Streuung der Stundenmittelwerte der Kontrollgruppe bedeutet
und

T einen Wahrscheinlichkeitsfaktor darstellt, welcher im vorliegenden
Fall folgenden Wert besitzt

Wahrscheinlichkeit:	95%	98%	99%	99,73%
T	1,96	2,33	2,58	3,00

T a b e l l e 1

Mittelwerte der stündlich gewonnenen Harnvolumina von Test- und Kontrolltieren

Stunden	Harnvolumina (ml)		Streuung m		Signi- fikanz %
	Test- tiere	Kontroll- tiere	Test- tiere	Kontroll- tiere	
1	0,168	0,156	$\pm 0,0180$	$\pm 0,0099$	---
2	0,166	0,146	$\pm 0,0097$	$\pm 0,0142$	---
3	0,164	0,155	$\pm 0,0107$	$\pm 0,0087$	---
4	0,168	0,158	$\pm 0,0080$	$\pm 0,0094$	---
5	0,199	0,154	$\pm 0,0113$	$\pm 0,0087$	99,73
6	0,201	0,158	$\pm 0,0090$	$\pm 0,0124$	99,00
7	0,213	0,186	$\pm 0,0107$	$\pm 0,0166$	---
8	0,210	0,193	$\pm 0,0107$	$\pm 0,0204$	---
9	0,247	0,216	$\pm 0,0118$	$\pm 0,0175$	---

T a b e l l e 2

Mittelwerte der Phosphatkonzentration des Stundenharns von Test- und Kontrolltieren

Stunden	H_3PO_4 (mg %)		Streuung m		Signi- fikanz %
	Test- tiere	Kontroll- tiere	Test- tiere	Kontroll- tiere	
1	506	563	$\pm 51,6$	$\pm 48,5$	---
2	771	762	$\pm 78,6$	$\pm 45,6$	---
3	901	795	$\pm 64,8$	$\pm 27,0$	---
4	1033	787	$\pm 72,2$	$\pm 34,1$	99,73
5	941	772	$\pm 58,4$	$\pm 56,8$	95,00
6	848	667	$\pm 37,0$	$\pm 57,8$	99,00
7	774	556	$\pm 62,2$	$\pm 47,3$	99,00
8	577	491	$\pm 31,0$	$\pm 52,0$	---
9	632	511	$\pm 55,7$	$\pm 35,4$	---

T a b e l l e 3

Mittelwerte der Phosphatkonzentration des Stundenharns von Test- und Kontrolltieren

Stunden	H_3PO_4 (mg) abs.		Streuung m		Signi- fikanz %
	Test- tiere	Kontroll- tiere	Test- tiere	Kontroll- tiere	
1	0,80	0,82	$\pm 0,098$	$\pm 0,057$	---
2	1,15	1,14	$\pm 0,078$	$\pm 0,064$	---
3	1,39	1,12	$\pm 0,116$	$\pm 0,042$	95,00
4	1,78	1,11	$\pm 0,108$	$\pm 0,056$	99,73
5	1,77	1,16	$\pm 0,090$	$\pm 0,083$	99,73
6	1,68	1,00	$\pm 0,084$	$\pm 0,092$	99,73
7	1,57	0,96	$\pm 0,084$	$\pm 0,069$	99,73
8	1,19	1,01	$\pm 0,070$	$\pm 0,115$	---
9	1,52	1,04	$\pm 0,120$	$\pm 0,072$	99,73

T a b e l l e 4

Mittelwerte der Calziumkonzentrationen des Stundenharns von Test- und Kontrolltieren

Stunden	Ca (mg %)		Streuung m		Signi- fikanz %
	Test- tiere	Kontroll- tiere	Test- tiere	Kontroll- tiere	
1	8,18	8,13	$\pm 0,66$	$\pm 1,27$	---
2	6,97	7,59	$\pm 0,60$	$\pm 1,13$	---
3	6,96	5,37	$\pm 0,75$	$\pm 0,96$	99,73
4	6,63	5,11	$\pm 0,54$	$\pm 0,77$	98,00
5	6,68	6,35	$\pm 0,65$	$\pm 0,73$	---
6	6,57	6,71	$\pm 0,59$	$\pm 0,53$	---
7	6,06	5,95	$\pm 0,47$	$\pm 0,44$	---
8	5,64	6,25	$\pm 0,36$	$\pm 0,74$	---
9	5,11	5,00	$\pm 0,36$	$\pm 0,30$	---

Tabelle 5

Mittelwerte der absolut ausgeschiedenen Calziummengen im Stundenharn von Test- und Kontrolltieren.

Stunden	Ca (mg) abs.		Streuung m		Signi- fikanz %
	Test- tiere	Kontroll- tiere	Test- tiere	Kontroll- tiere	
1	0,0126	0,0111	$\pm$ 0,0010	$\pm$ 0,0013	---
2	0,0106	0,0096	$\pm$ 0,0009	$\pm$ 0,0010	---
3	0,0108	0,0082	$\pm$ 0,0001	$\pm$ 0,0005	98,00
4	0,0109	0,0082	$\pm$ 0,0009	$\pm$ 0,0006	98,00
5	0,0127	0,0097	$\pm$ 0,0011	$\pm$ 0,0010	95,00
6	0,0129	0,0103	$\pm$ 0,0010	$\pm$ 0,0011	---
7	0,0122	0,0104	$\pm$ 0,0008	$\pm$ 0,0002	---
8	0,0118	0,0114	$\pm$ 0,0011	$\pm$ 0,0013	---
9	0,0125	0,0125	$\pm$ 0,0009	$\pm$ 0,0008	---

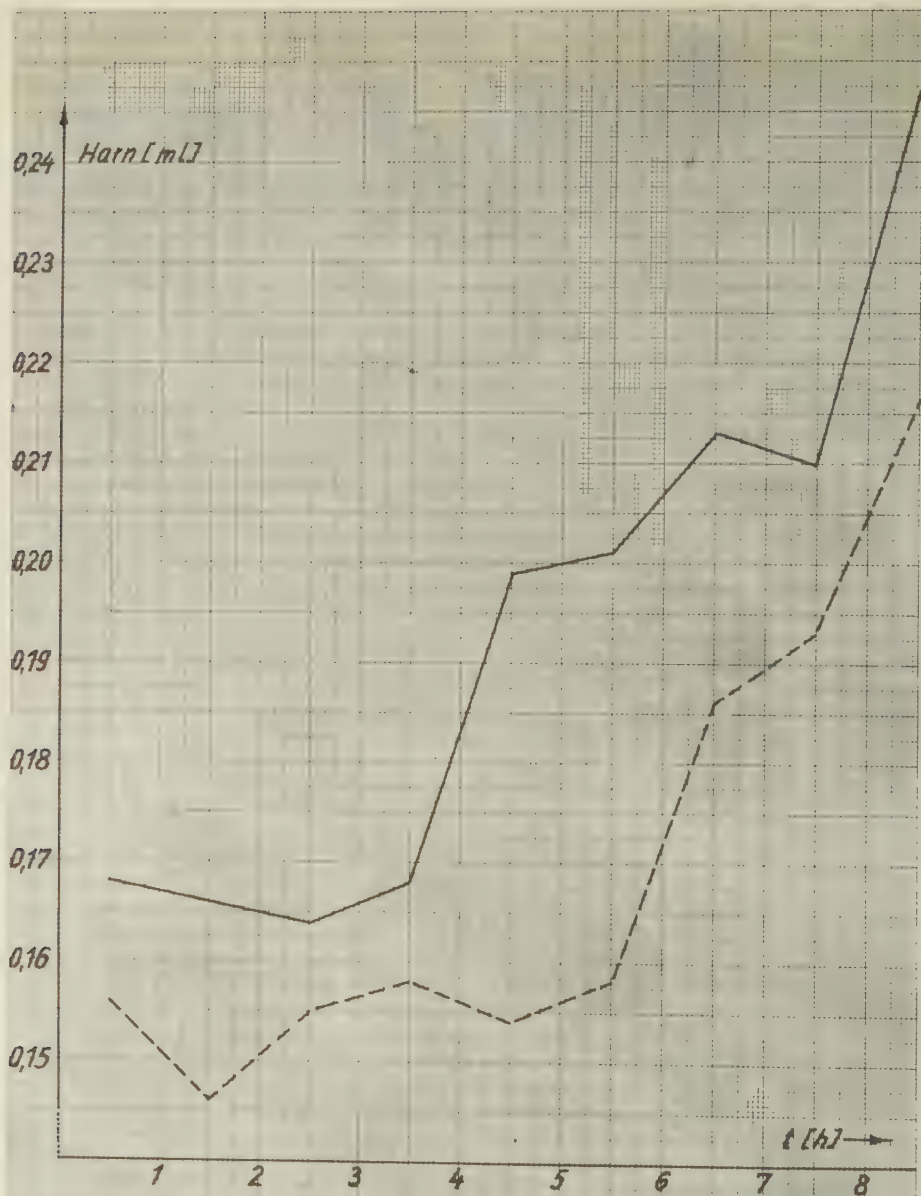


Abb.1 Stündliche Harnausscheidung als Funktion der Zeit

— Testgruppe
--- Kontrollgruppe

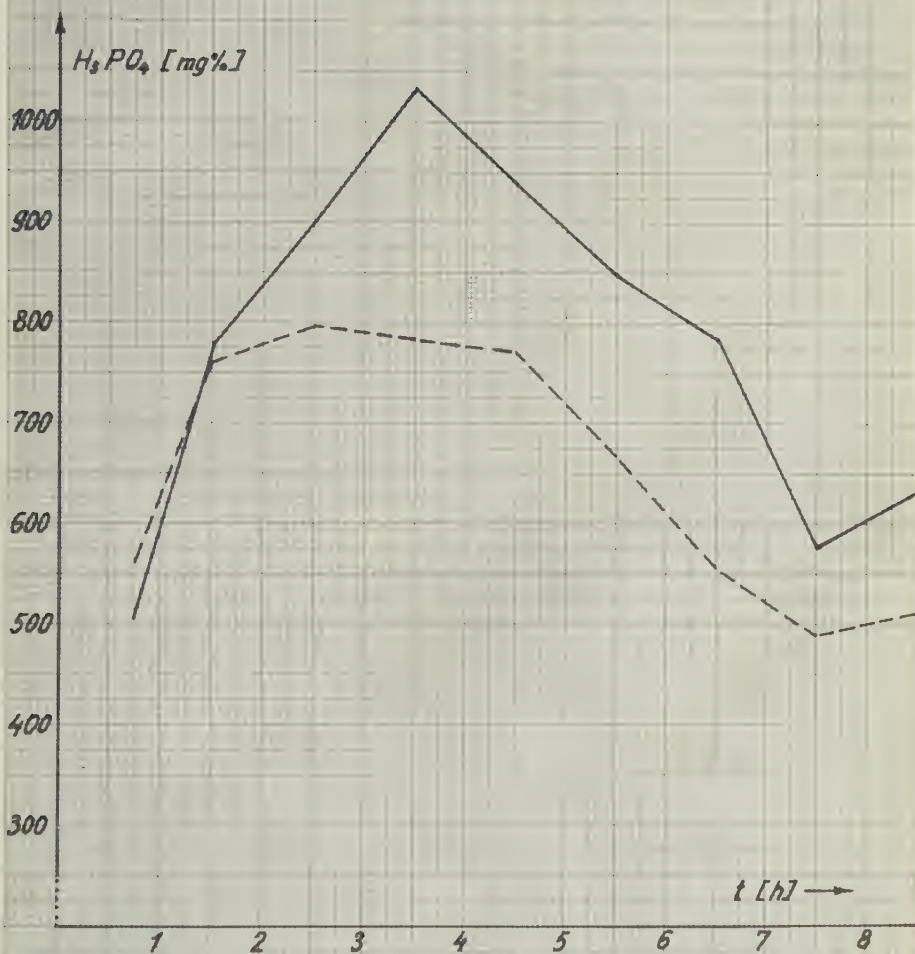


Abb.2 Phosphatkonzentration des Stundenharns, angegeben als Phosphorsäure

— Testgruppe
--- Kontrollgruppe

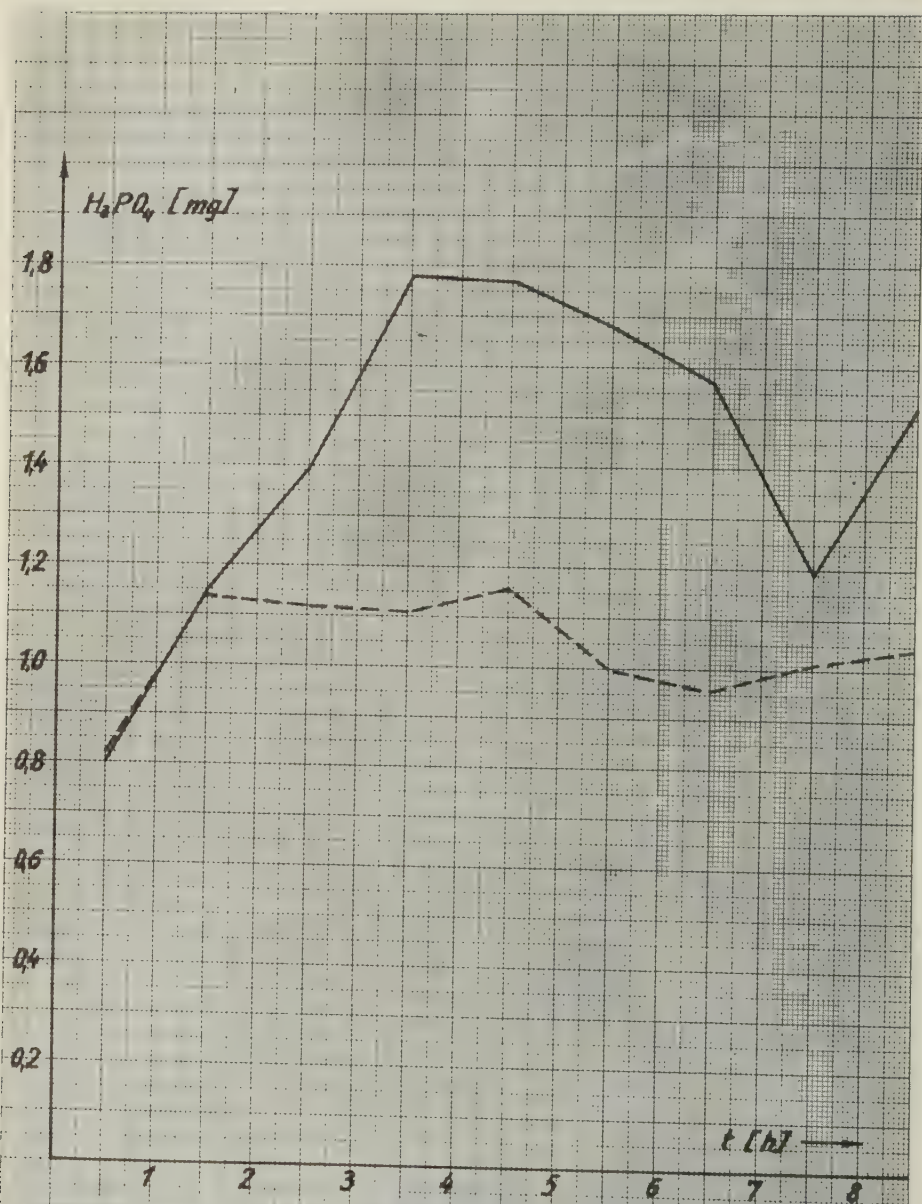


Abb. 3 Stündliche Phosphatausscheidung mit dem Harn als Funktion der Zeit, angegeben als Phosphorsäure

— Testgruppe
--- Kontrollgruppe



Abb. 4 Calciumkonzentration des Stundenharns
 — Testgruppe
 --- Kontrollgruppe

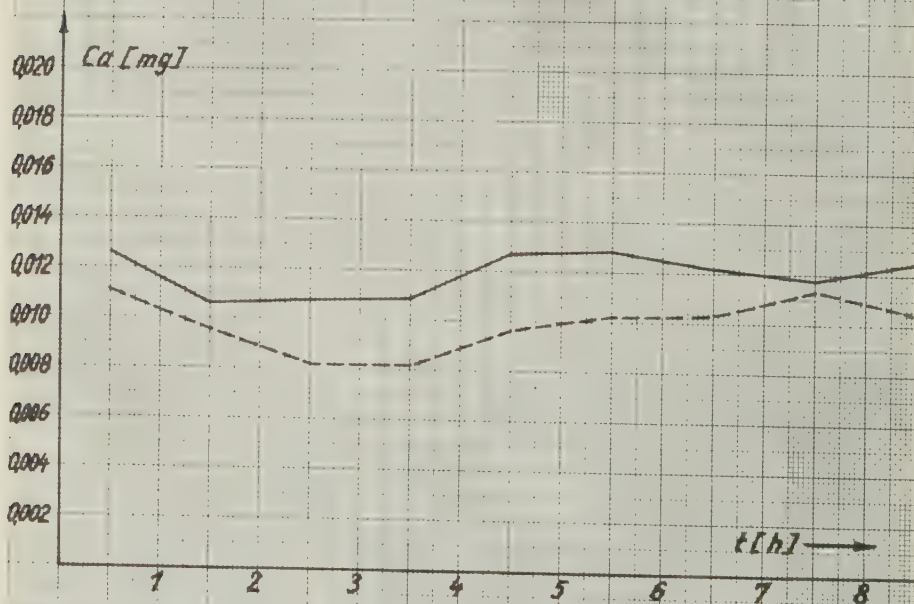


Abb.5 Stündliche Calciumausscheidung im Harn als Funktion der Zeit

— Testgruppe
- - - Kontrollgruppe

Aus den Tabellen und Abbildungen läßt sich folgendes ersehen:

1. Die Vitaminapplikation bewirkt einen leichten Diureseeffekt.
2. Die renale Phosphatausscheidung wird unter dem Einfluß von Vitamin D gefördert. In der 2., 4. und 5. Sammelperiode nach Beginn der Vitamin-D-Infusion ist die Phosphatkonzentration des Stundenharns der Testtiere signifikant erhöht.
3. Die absolut ausgeschiedene Phosphatmenge ist schon im Verlauf der ersten Stunde nach Verabreichung von Vitamin D gegenüber den Kontrolltieren erhöht. Sie erreicht in der 2. Stunde ihr Maximum und liegt bis zur 5. Sammelperiode signifikant über den Kontrollwerten.
4. Calciumkonzentration und -ausscheidung werden durch Vitamin D nicht beeinflußt.

3. DISKUSSION

Die Ausscheidung von Calcium und Phosphat durch die Niere von *g e s u n d e n* Tieren wird durch den Antagonismus von Parathormon und Vitamin D in folgender Weise beeinflusst:

Parathormon verursacht eine Phosphatdiurese und eine Erhöhung der Calciumausscheidung mit dem Harn. Wird nun der Calciumspiegel des Blutplasmas durch Vitamin D erhöht (Verbesserung der Calciumresorption oder Mobilisierung von Knochencalcium bei hoher Vitamindosierung), so hat dies eine Minderung der Parathormonausschüttung zur Folge, da die Nebenschilddrüsentätigkeit nach McLEAN (39) und PATT und Mitarb. (45) durch den Calciumspiegel des Blutes gesteuert wird. Dadurch wird die Ausscheidung von Calcium und Phosphat über die Niere gebremst.

Dies ist in erhöhtem Maße auch bei *n e b e n s c h i l d d r ü s e n l o s e n* Tieren der Fall. Wird hier jedoch Vitamin D verabreicht, so tritt keine weitere Verminderung der Calcium- und Phosphatausscheidung mit dem Harn ein, da die Parathormonwirkung entfällt. Vielmehr wird nun die Ausscheidung dieser Ionen nach CRAWFORD (12) wieder gesteigert. Vitamin D wirkt nach Wegfall des Parathormons wie das Hormon selbst, besitzt also eine eigene Nierenwirkung, welche beim gesunden Tier durch die Parathyreoideae offenbar aufgehoben wird.

Bei den eigenen Untersuchungen (Tabelle 3, Abb. 3) hat sich nun gezeigt, daß die Dauerinfusion von Vitamin D bei der gesunden Ratte eine Erhöhung der Phosphatausscheidung verursacht, während die Calciumausscheidung unverändert bleibt. Das bedeutet, daß sich bei *h o h e r* Vitamindosierung der Wegfall der Nebenschilddrüsenwirkung durch die Eigenwirkung von Vitamin D an der Niere aufheben läßt. Es ist nicht so sehr überraschend, daß dies nur hinsichtlich der Phosphatausscheidung beobachtbar war, da bekannt ist, daß die Phosphatausscheidung über die Niere leichter und schneller beeinflussbar ist als die Calciumausscheidung, d.h., daß eine Änderung der Phosphatausscheidung einer Änderung der Calciumausscheidung zeitlich vorangeht. Welche der beiden Vitaminwirkungen - die Dämpfung der Nebenschilddrüsentätigkeit oder die Steigerung der Calcium- und Phosphatausscheidung - an der Niere schließlich manifest wird, hängt offen-

bar von der Vitamindosierung ab: Bei hoher Dosierung - wie im vorliegenden Fall - scheint die Nierenwirkung zu überwiegen.

Neben der Erhöhung der Phosphatausscheidung wurde in der 3. und 4. Stunde nach Beginn der Vitamin D-Infusion eine Steigerung des Harnflusses um 25 - 30 % des Kontrollwertes beobachtet. Dies ist vermutlich in Wirklichkeit ein Citrateffekt, da Vitamin D nach BRUCHMANN (6) eine Hemmung der Aconitat-Hydratase des Citronensäurezyklus und damit eine intermediäre Anreicherung von Citronensäure verursacht, welche nach anderen unveröffentlichten Befunden des Institutes eine gewisse diuretische Wirkung besitzt.

4. Z U S A M M E N F A S S U N G

1. Nach siebenstündiger Dauerinfusion von wasserlöslichem Vi-Dé 3 Hydrosol WANDER bei weiblichen Ratten wurden folgende Exkretionswerte bestimmt:
 - a) das stündliche Harnvolumen
 - b) die Calcium- und Phosphatkonzentration des Stundenharns und
 - c) die stündlich im Harn ausgeschiedene Calcium- und Phosphatmenge.
2. Die Calciumanalyse erfolgte mit Hilfe der Substitutionsmethode von SCHMID und ZIPF (51), die Bestimmung des Phosphats nach der colorimetrischen Methode von POLLEY (47).
3. Die Konzentration des ausgeschiedenen Phosphats erreichte in der 2. Stunde der Verabreichung von Vitamin D ein Maximum und lag um ca. 30 % höher als bei den Kontrolltieren.
4. Die absolut ausgeschiedene Phosphatmenge der Testtiere erreichte zur selben Zeit wie die Konzentration ein signifikantes Maximum gegenüber den Kontrolltieren.
5. Die Ausscheidung von Calcium wurde durch die angewandte Vitamindosierung hinsichtlich Konzentration und absoluter Menge nicht beeinflusst.
6. Vitamin D besaß unter den angegebenen Bedingungen einen leichten diuretischen Effekt.
7. Bei konstanter hoher Dosierung überlagert Vitamin D den Wegfall der Parathormonwirkung an der Niere.

6. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. ALBRIGHT, F. and J.clin.Invest.
ELLSWORTH, R. 7, 183-201 (1929)
2. ALBRIGHT, F. and "The parathyreoid glands and
E.C.REIFENSTEIN jr. metabolic bone disease"
Williams and Wilkins, Baltimore,
Md. (1948)
3. AMMON, R. and "Fermente, Hormone, Vitamine"
W. DIRSCHERL G. Thieme Verlag Stuttgart
2. Aufl. 1948
4. BOCK, F. and Hoppe-Seyler's Z.Physiol. Chem. 256, 33
WETTER, F. (1938)
5. BROCKMANN, H. Ergebn. Physiol.
40, 292 (1938)
6. BRUCHMANN, E.E. Hoppe-Seyler's Z.Physiol.Chem.
326, 27-34 (1961)
7. CARLSSON, A., Acta physiol.scand. (Stockh.)
G. HOLLUNGER, 31, 317-333 (1954)
M. LINDQUIST and
T. MAGNUSSON
8. CARLSSON, A. Acta physiol. scand.
31, 308-311 (1954)
9. CAUSERET, J. et Bull. Soc.chim.biol. (Paris)
D.HUGOT 43, 471-478 (1961)
10. CLÉMENTS, P. C.r.Soc.Biol.Paris
130, 815-816 (1939)
11. CRUAWFORD, J.D., Endocrinology (Springfield, Ill.)
D.GRIBEK, W.C.DINER, 61, 59-71 (1957)
P.HURST and B.CASTLEMAN

12. CRAWFORD, J.D., Amer.J.Physiol.
D.GRIBEK and 180, 156-162 (1955)
N.B. TALBOT

13. CRAWFORD, M.A., J. Physiol. (Lond.)
M.D.MILNE and 149, 413-423 (1959)
B.H. SCRIBNER

14. DE LUCA, H.F. and Science (Lancaster, Pa.)
H. STEENBOCK 126, 258 (1957)

15. DIKSHIT, P.K. and Indian.J.med.Res.
S. SRIRAMACHARI 49, 115-124 (1961)

16. DIKSHIT, P.K. and Ind.J.med.Sci.
V.N.PATWARDHAN 6, 107 (1952)

17. ELLIOTT, J.R. and Endocrinology (Springfield, Ill.)
S. FREEMAN 59, 196-200 (1956)

18. FLASCHENTRÄGER, B. and "Physiologische Chemie"
E. LEHNARTZ Berlin-Göttingen-Heidelberg:
Springer-Verlag 1954

19. GREENBERG, D.M. J.biol.Chem.
157, 99 (1945)

20. HARRISON, H.E. and J.biol. Chem.
HARRISON H.C. 188, 83 (1951)

21. HARRISON, H.E. and Amer.J.Physiol.
H.C. HARRISON 199, 265-271 (1960)

22. HARRISON, H.E. and Yale J. biol. Med.
H.C. HARRISON 24, 273-283 (1952)

23. HARRISON, H.C., Amer.J.Physiol.
H.E.HARRISON and 192, 432-436 (1958)
E.A. PARK

24. HARRISON, H.E. and J. Pediat.
H.C. HARRISON 41, 756-765 (1952)
25. HARRISON, H.C. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.
H.E. HARRISON and 96, 768-773 (1957)
E.A. PARK
26. HARRISON, H.E. and J. clin. Invest.
H.C. HARRISON 20, 47 (1941)
27. HENNIG, W. und Z. Kinderheilk.
W. THEOPOLD 69, 55-61 (1951)
28. HERZFELD, E., Z. exper. Med.
H. KLUPP, 126, 33-39 (1955)
M. LOUDON und
E. ZWEYMÜLLER
29. HESS, A.F. und J. biol. Chem.
WEINSTOCK, M. 62, 301-313 (1924)
30. HULDSCHINSKY, K. Dtsch. med. Wschr.
65, 712-713 (1919)
31. HUME, E.M. Nutr. Abstr. Rev.
6, 891-901 (1937)
32. HURNI, H. Int. Z. f. Vit. Forsch.
20, 216 (1948)
33. JOSHI, J.G., Indian J. Med. Res.
P.K. DIKSHIT and 45, 439-445 (1957)
V.N. PATWARDHAN
34. KALOUD, H. Öst. Z. Kinderheilk.
11, 216-221 (1955)
35. LASKOWSKI, M. Biochem. Z.
292, 319-325 (1937)

36. LEUTHARDT, F. "Lehrb. d. Physiol. Chemie"
Walter de Gruyter-Verlag
Berlin 1961, 14. Aufl.
37. L'HEUREUX, M.V. and G.J. ROTH Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.
84, 7-9 (1953)
38. Mc-COLLUM, E.V., N. SIMMONDS,
H.T. PARSONS, P.G. SHIPLEY and
E.A. PARK J. biol. Chem.
45, 333-342 (1921)
39. McLEAN, F.C. Science
127, 451 (1958)
40. MELLANBY, E. Spec. Rep. Scr. med. Res. Counc (Lond.)
61, (1921)
41. MIGICOVSKY, B.B. and J.W.S. JAMIESON Canad. J. Biochem. a. Physiol.
33, 202-208 (1955)
42. MIGICOVSKY, B.B. and A.R.G. EMSLIE Arch. Biochem.
28, 324 (1950)
43. NEUMAN, W.F., H. FIRSCHEIN,
P.S. CHEN jr. B.J. MULRYAN and
V. DISTEFANO J. Amer. Chem. Soc.
78, 3863-3864 (1956)
44. NICHOLSON, T.F. Canad. J. Biochem. and Physiol.
37, 113-117 (1959)
45. PATT, H.M. and A.M. LUCKHARDT Endocrinology
31, 384-392 (1942)
46. POHL, A. Naturwiss.
15, 433 (1927)

47. POLLEY, J.R. Canad. J. Res. (E)
27, 265 (1949)
48. ROMINGER, E. Arch.Kinderheilk.
131, 53 (1944)
49. ROSENHEIM, O. und
T.A. WEBSTER Biochem. J.
20, 537 (1926)
21, 289 (1927)
50. SAMIY, A.H.,
R.E.HIRSCH,
A.G.RAMSAY,
C.GIORDANO and
J.P.MERILL Endocrinology
67, 266-270 (1960)
51. SCHMID, A. und
K. ZIPE Biochem. Z.
333, 84-87 (1960)
52. SCHMID, A. "Über den Wirkungsmechanismus von
Parathormon und Vitamin D" Vortrag am
18.12.1962 in Hannover
53. SCHREIER, K. Mschr. Kinderheilkd.
97, 121-125 (1949)
54. SHERMANN, H.C. and
A.M.PAPPENHEIMER Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.)
18, 193-197 (1921)
55. STEENBOCK, H. and
A. BLACK J. Biol. Chem.
61, 405-422 (1924)
56. STRÖDER, J.,
H.ZEISEL und
E.MÜLLER Münchner Med. Wschr.
1960, 1707, 1728
57. THEOPOLD, W. und
W. HENNIG Mschr. Kinderheilk.
97, 462-468 (1950)

58. THOMAS, W.C. jr., J.E. HOWARD and T.B. CONNOR Bull. Johns. Hopk. Hosp. 101, 123-139 (1957)
59. TSUNO, K. Tokushima J. exp. Med. 8, 41-44 (1961)
60. VELLUZ, L., G. AMIARD et A. PETIT Bull. Soc. chim. France 1955, 1341
61. VELLUZ, L., G. AMIARD et A. PETIT Bull. Soc. chim. France 1949, 501-507
62. WARKANY, J. and H.E. MABON Amer. J. Dis. Children 60, 606 (1940)
63. WARKANY, J. and WASITZKY, A. Z. Kinderheilk. 53, 171 (1932)
64. WEBER, E. "Grundriß der biologischen Statistik" Jena: Fischer-Verlag 1948
65. WILSON, D.C. Lancet 1, 961-962 (1940)
66. WINDAUS, A. und A.F. HESS Nachr. d. Ges. d. Wiss. Göttingen Math.-Naturw. Klasse 185, 1926
67. WINDAUS, A. Hoppe-Seyler's Z. f. Physiol. Chem. 244, 218 (1936)
68. ZETTERSTRÖM, R. Nature (Lond.) 167, 409 (1951)
69. ZWEYMÜLLER, E. Neue Österr. Z. Kinderheilk. 2, 116-124 und 173-185 (1957)

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. K. Zipf danke ich für die
Überlassung des Themas und die vorzüglichen Arbeits-
bedingungen an seinem Institut.

Herrn Privatdozenten Dr. A. Schmid bin ich für die
jederzeit gewährte freundliche Unterstützung und Be-
ratung zu großem Dank verpflichtet.

LEBENS LAUF

Am 26. Juni 1937 wurde ich als Sohn des Verwaltungsinspektors Ludwig Stockmaier und seiner Ehefrau Klara, geb. Fuchs, in Donauwörth geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule in Bastheim/Bad-Neustadt und München-Pasing trat ich 1948 in das Progymnasium Schweiklberg/Vilshofen ein. 1949 und 1950 besuchte ich das Humanistische Gymnasium Pasing. 1951 wechselte ich in das Wittelsbacher Gymnasium in München, wo ich im Juli 1957 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1957/58 begann ich das Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München, das ich im Juli 1962 mit dem Staatsexamen abschloß.

